

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591556

研究課題名(和文)食物アレルギー発症と皮膚ならびに腸管バリア機能異常との関連の検討

研究課題名(英文) Analysis of the association between the abnormal skin and intestinal barrier function and food allergy.

研究代表者

宇理須 厚雄 (Urisu, Atsuo)

藤田保健衛生大学・医学部・教授

研究者番号：20193972

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚バリアーの脆弱性と食物アレルギー発症との関連を検証することを目的として、食物アレルギー患者の病態とfilaggrin (FLG) の関連について検討した。

対象は、食物アレルギーを疑い、藤田保健衛生大学坂文種報徳会病院と関連施設を受診した、乳幼児116例とした。FLG変異、FLG領域のSNP、copy number variation (CNV) について解析し、臨床所見、検査所見との関連を検索した。その結果、FLG遺伝子promoter領域に存在するSNPと、感作食品数および鶏卵、牛乳の特異的IgE値との関連が認められ、食物感作に及ぼすFLGの関与を示唆する新たなevidenceと考えられた。

研究成果の概要(英文)：For the purpose of verifying the relationship between food allergy and the skin barrier function, we examined the association of filaggrin (FLG) gene variation with clinical findings of food allergy in infants.

Subjects were 116 cases of infants (9 months to 14 months old) who were suspected food allergy and referred to Fujita Health University Ban Buntane Hotokukai hospital or its related facilities. FLG loss of function mutations, SNPs and copy number variations (CNVs) of FLG locus, were analyzed and their association with clinical findings, and laboratory findings were evaluated. As a result, association of a SNP present in the FLG gene promoter region with number of sensitized foods, and ImmnoCAP class of both egg and milk was observed. This SNP was considered to be in linkage disequilibrium with unknown loss-of-function mutations or promoter activity affecting its expression, and this finding is a new evidence suggesting the involvement of FLG on food sensitization.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：食物アレルギー filaggrin 皮膚バリア異常

1. 研究開始当初の背景

近年、経皮的な感作がアレルギーを惹起しやすいとの考えが着目されており、皮膚バリア機能の低下が、食物抗原の経皮感作を介して食物アレルギーの危険因子となっている可能性が指摘されている。

filaggrin 蛋白は表皮に発現し、皮膚のバリア機能形成に重要な役割を果たしているが、Palmer らは filaggrin の機能喪失変異 (R501X、2284del4) がアトピー性皮膚炎患者の主な危険因子であることを明らかにした (Palmer et al. Nat Genet, 2006; 38: 441-6.)。日本人では、Nomura らが、西洋人の R501X、2284del4 に代わり、機能喪失変異 S2554X、S2889X、S3296X、3321delA が危険因子であると報告した (Nomura. J Invest Dermatol 2008; 128: 1436-41.)。さらに、気管支喘息の重症度との関連 (Palmer. J Allergy Clin Immunol 2007; 120: 64-8.) など他のアレルギー疾患との関連も報告されるが、食物アレルギーとの関連は明らかではない。

2. 研究の目的

日本人食物アレルギー患者を対象に filaggrin 遺伝子を解析して、食物アレルギー臨床上の各種パラメーターとの関連を検討し、食物アレルギー発症に及ぼす皮膚バリア機能の影響を検討する。

3. 研究の方法

対象は、食物アレルギーを疑い、藤田保健衛生大学、坂文種報徳会病院、豊橋市民病院、渥美病院、星ヶ丘マタニティ病院、てらだアレルギーこどもクリニック (各倫理委員会承認済み) を受診した、生後 9 ヶ月から 14 ヶ月の乳幼児のうち保護者の同意を得た 116 例とした。

方法は、①問診・診察にて、月齢、性別、診断 (アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、喘鳴の既往、尋常性魚鱗癬)、家族歴 (アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、気管支喘息、アレルギー性鼻炎)、栄養方法 (母乳栄養、混合栄養、完全人工乳)、離乳食の開始時期、湿疹の発症時期 (なし、生後 1 ヶ月まで、1 ヶ月以降離乳食開始前、離乳食開始後)、皮膚所見 (EASI score) ステロイド外用剤使用量 (5g/月以下、5g/週以下、5g/週以上) を調査し、②採取した血液にて、好酸球数、総 IgE 値、TARC、抗原特異的 IgE 値 (卵白、牛乳、小麦、大豆、ピーナッツ、コナヒョウヒダニ) を測定した。③FLG 遺伝子変異 (日本人で既知の 8 変異; R501X、3321delA、S2554X、S3296X、S2889X、S1695X、K4022X、Q1701X) および FLG 領域の SNP (rs1933064、rs12730241) については (図 1)、Custom TaqMan SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いて解析した。同遺伝子の copy number variation (CNV) は、Brown SJ 等 (J Invest

Dermatol. 2012; 132: 98) にしたがって、FLG 遺伝子 Exon3 に設定した 2 つの long PCR を用いて解析した

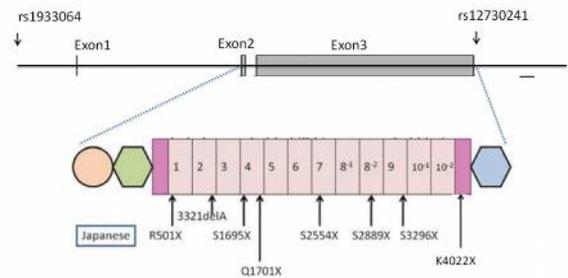


図 1 解析した機能喪失変異と SNP、Nomura 等より引用改編

統計処理は JMP 8.0.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA) を用いた。

4. 研究成果

対象の月例は、9-14 ヶ月 (平均 12 ヶ月)、男児 67 例、女児 49 例で、50% がアトピー性皮膚炎と診断され、総 IgE は 20.0-194.3 平均 60.5 (IU/ml) であった。17 例 (14.7%) に、FLG の既知の 8 変異のどれかが認められた。FLG の変異とアトピー性皮膚炎との関連は認められなかったが、5 食品のどれかに対する特異的 IgE の有無と FLG の変異との間には関連が認められた (p=0.039)。

一方、filaggrin 遺伝子上流の調節領域に存在する多形 rs1933064 は、感作食品数 (表 1、p=0.029) および鶏卵 (表 2)、牛乳 (表 3) の ImmnoCAP クラスと関連 (それぞれ p=0.025、p=0.019) が認められ、これらは、アトピー性皮膚炎の影響を除くとさらに危険率が低下した (それぞれ p=0.0055、p=0.0068、p=0.0063)。

FLG 遺伝子 Exon3 の CNV は、アトピー性皮膚炎の罹患率 (表 4)、重症度や食物アレルギーの感作等との関連が認められなかった。

これまで、FLG の機能喪失変異とアトピー性皮膚炎、食物アレルギーとの関連が繰り返し報告されてきた。今回の我々の検討では、FLG 遺伝子 promoter 領域に存在する SNP (rs1933064) と乳幼児期における食物アレルギーへの感作の広がり (項目数) 及び強さ (ImmnoCAP クラス) との有意な関連が示された。これらの関連は、対象から既知の FLG の機能喪失変異を有する症例を除いても認められた。

この関連の説明として、rs1933064 が FLG 遺伝子 Exon3 領域の CNV と連鎖不平衡にある可能性を検討する目的で、CNV と皮膚炎や食物アレルギー感作との関連を検討したが、これらはすべて陰性であった (表 4)。

これらより、rs1933064 は、未知の機能喪失変異、あるいは、発現に影響を与える promoter 活性と連鎖不平衡にあると考えられ、いずれにしろ、食物感作に及ぼす FLG の関与を示唆する新たな evidence と考えられ

た。

以上、FLG 遺伝子の SNP (rs1933064) と乳幼児期における食物アレルギー感作に有意の関連が認められ、食物感作に及ぼす皮膚バリア脆弱性の影響を示唆するものと思われた。

表1 rs1933064 genotypeと感作食物アレルギー数の関係

感作食物 アレルギー数	0	1	2	3	4	5	P-value
rs1933064							0.029**
AA	13	20	14	9	14	14	(0.0055*)
AG	6	10	7	1	1	2	
GG	2	1	2	0	0	0	

** Kruskal-Wallis test

* 順序ロジスティックモデルを用いて、アトピー性皮膚炎、FLG機能喪失変異の影響を調整

表2 rs1933064 genotypeと卵白特異的IgEの関係

ImmunoCAP class	0	1	2	3	4	5	6	P-value
								0.025**
AA	13	2	15	30	13	8	3	(0.0068*)
AG	7	1	6	11	0	2	0	
GG	2	0	2	1	0	0	0	

**Kruskal-Wallis test

*順序ロジスティックモデルを用いて、アトピー性皮膚炎、FLG機能喪失変異の影響を調整

表3 rs1933064 genotypeと牛乳特異的IgEの関係

ImmunoCAP class	0	1	2	3	4	5	6	P-value
								0.019
AA	37	6	15	14	7	4	1	(0.0063*)
AG	19	2	2	2	1	1	0	
GG	4	1	0	0	0	0	0	

**Kruskal-Wallis test

*順序ロジスティックモデルを用いて、アトピー性皮膚炎、FLG機能喪失変異の影響を調整

表4 FLG copy number variationとアトピー性皮膚炎の関係

反復数	20	21	22	23	24	P-value
アトピー性皮膚炎						0.96
なし	2	6	17	12	19	
あり	4	6	14	13	20	

Fisher exact test

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

1. Tsuge I, Ito K, Ohye T, Kando N, Kondo

Y, Nakajima Y, Inuo C, Kurahashi H, Urisu A. Acute eosinophilic pneumonia occurring in a dedicator of cytokinesis 8 (DOCK8) deficient patient. *Pediatr Pulmonol.* 2014 49:e52-5. 査読有

2. Nomura T, Tsuge I, Inuo C, Nakajima Y, Tanaka K, Naruse N, Suzuki S, Ando H, Kondo Y, Saitoh S, Urisu A, Effect of Japanese cedar specific immunotherapy on allergen-specific TH2 cells in peripheral blood. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013;110:380-385. 査読有

3. Nomura T, Tsuge I, Inuo C, Nakajima Y, Kondo Y, Sugiura S, Murata H, Iguchi T, Terada A, Saitoh S, Hashimoto S, Urisu A. Food sensitization in Japanese infants is associated with a common Filaggrin variant. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013;110:388-390. 査読有

4. Inuo C, Kondo Y, Itagaki Y, Kurihara K, Tsuge I, Yoshikawa T, Urisu A, Anaphylactic reaction to dietary oats. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013; 110:305-6. 査読有

5. Urisu A, Tanaka K, Ogura K, Naruse N, Hirata N, Nakajima Y, Inuo C, Suzuki S, Ando H, Kondo Y, Tsuge I, Yamada K, Kimura, M. New approach for improving the safety of oral immunotherapy for food allergy. *Clin Exp Allergy Rev* 2012; 12:25-28. 査読なし

6. Watanabe S, Taguchi H, Temmei Y, Hirao T, Akiyama H, Sakai S, Adachi R, Urisu A, Teshima R; Specific detection of potentially allergenic peach and apple in foods using polymerase chain reaction. *J Agric Food Chem.* 2012;

- 7: 2108-15. 査読有
7. Nakamura R, Ishiwatari A, Higuchi M, Uchida Y, Nakamura R, Kawakami H, Urisu A, Teshima R; Evaluation of the luciferase assay-based in vitro elicitation test for serum IgE. *Allergol Int.* 2012; 61: 431-7. 査読有
 8. Torii S, Torii A, Itoh K, Urisu A, Terada A, Fujisawa T, Yamada K, Suzuki H, Ishida Y, Nakamura F, Kanzato H, Sawada D, Nonaka A, Hatanaka M, Fujiwara S. Effects of oral administration of *Lactobacillus acidophilus* L-92 on the symptoms and serum markers of atopic dermatitis in children. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011;154:236. 査読有
 9. Taguchi H, Watanabe S, Temmei Y, Hirao T, Akiyama H, Sakai S, Adachi R, Sakata K, Urisu A, Teshima R. Differential detection of shrimp and crab for food labeling using polymerase chain reaction. *J Agric Food Chem.* 2011; 59:3510. 査読有
 10. Caubet JC, Kondo Y, Urisu A, Nowak-Węgrzyn A. Molecular diagnosis of egg allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2011;11:210. 査読有
 11. Urisu A, Ebisawa M, Mukoyama T, Morikawa A, Kondo N; Japanese Society of Allergology. Japanese guideline for food allergy. *Allergol Int.* 2011;60:221. 査読なし
 12. Kondo Y, Tanaka K, Inuo C, Tsuge I, Urisu A. A patient with salmon roe allergy showing taxonomy-unrelated cross-reactivity with sea urchin roe. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2011;107:283. 査読有
 13. Wakasa Y, Hirano K, Urisu A, Matsuda

T, Takaiwa F. Generation of transgenic rice lines with reduced contents of multiple potential allergens using a null mutant in combination with an RNA silencing method. *Plant Cell Physiol.* 2011; 52:2190. 査読有

[学会発表] (計 5 件)

1. 宇理須厚雄、子どもの食物アレルギーU P TO DATE、第64回日本皮膚科学会中部支部学術大会;名古屋、2013年11月2日
2. 宇理須厚雄、園・学校における食物アレルギーへの対応ー食物アレルギーの基礎知識ー、第60回日本小児保健協会学術集会;東京、2013年9月26-29日.
3. 宇理須厚雄、食物アレルギーの最近の話題、第18回日本ラテックスアレルギー研究会ラテックス・OASフォーラム2013;横浜、2013年7月28日
4. 宇理須厚雄、総合アレルギー医育成コースー食物アレルギーガイドラインー、第25回日本アレルギー学会春季臨床大会;横浜、2013年5月11-12日.
5. 宇理須厚雄、食物アレルギーの日常診療における特異的IgE検査の活用 食物アレルギーにおける抗原特異的IgE検査の種類と臨床応用. 第24回、日本アレルギー学会春季臨床大会、大阪、2012年5月12日13日.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

[その他]

ホームページ等
 特になし
 6. 研究組織
 (1) 研究代表者

宇理須 厚雄 (Urisu Atsuo)
藤田保健衛生大学医学部・教授
研究者番号： 20193972

- (2) 研究分担者
なし
- (3) 連携研究者
なし